

(19)日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11)特許出願公開番号

特開2003-252794

(P2003-252794A)

(43)公開日 平成15年9月10日(2003.9.10)

(51)Int.Cl. ⁷	識別記号	F I	テームト [*] (参考)
A 6 1 K 45/00		A 6 1 K 45/00	4 C 0 3 3
31/426		31/426	4 C 0 8 4
A 6 1 P 1/00		A 6 1 P 1/00	4 C 0 8 6
1/16		1/16	
3/10		3/10	
審査請求 未請求 請求項の数4 O L (全 11 頁) 最終頁に続く			

(21)出願番号 特願2002-56224(P2002-56224)

(22)出願日 平成14年3月1日(2002.3.1)

(71)出願人 000185983

小野薬品工業株式会社

大阪府大阪市中央区道修町2丁目1番5号

(72)発明者 寺井 浩一郎

大阪府三島郡島本町桜井3丁目1番1号

小野薬品工業株式会社水無瀬総合研究所内

(72)発明者 川▲ばた▼ 和一十

大阪府三島郡島本町桜井3丁目1番1号

小野薬品工業株式会社水無瀬総合研究所内

(72)発明者 田中 真

大阪府三島郡島本町桜井3丁目1番1号

小野薬品工業株式会社水無瀬総合研究所内

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 アルドース還元酵素阻害剤を有効成分として含有するアポトーシス抑制剤

(57)【要約】

【構成】 アルドース還元酵素阻害剤がアポトーシス関連疾患を予防および／または治療する。

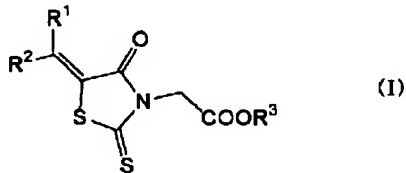
【効果】 アルドース還元酵素阻害剤はアポトーシスを抑制するため、アポトーシス関連疾患、例えば、アルツハイマー型老年痴呆症等の痴呆症、脳血管障害、神経変性疾患、A I D S、A I D S関連疾患、疾患、成人T細胞白血病、毛様細胞白血病、脊髄症、呼吸器障害、関節症、ブドウ膜炎等のH I V、H T L V関連疾患や全身性エリテマトーデス、慢性関節リウマチ等の膠原病、潰瘍性大腸炎等の予防および／または治療に有用である。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 アルドース還元酵素阻害剤を有効成分として含有するアボトーシス関連疾患の治療および／または予防剤。

【請求項2】 アルドース還元酵素阻害剤が、一般式(1)

【化1】



(式中、R¹ および R² は、(1) R² および R² はそれぞれ独立して、それぞれ下記(i)～(x)から選択される1個以上の基で置換されているか、もしくは無置換のフェニル基：

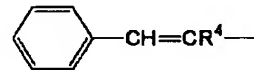
(i) ハロゲン原子、(ii) トリフルオロメチル、(iii) 水酸基、(iv) ニトロ、(v) カルボキシル基、(vi) C1～4アルキルで置換されていてもよいアミノ、(vii) C1～4アルキル、C1～4アルコキシ、もしくはC1～4アルキルチオ、(viii) フェニル、(ix) 窒素、酸素および硫黄原子の少なくとも1個を含む複素環：(該複素環は、(a) ハロゲン原子、(b) トリフルオロメチル、(c) フェニル、(d) ニトロ、(e) 水酸基、(f) カルボキシル基、(g) C1～4アルキルで置換されていてもよいアミノ、(h) C1～4アルキル、(j) C1～4アルコキシ、および(k) C1～4アルキルチオから選択される1個以上の基で置換されていてもよい。)、(x) 水酸基、フェニルおよび前記の(ix)に記載の複素環から選択される1個以上の基で置換されたC1～4アルキル；を表わすか、(2) R¹ が水素原子を表わし、かつR² が下記(i)～(vi)で示される基：

(i) 1個以上のC1～4アルキルで置換されているか、もしくは無置換のC4～7のシクロアルキル、もしくはC4～7シクロアルケニル、(ii) アントリルまたはナフチル、(iii) 下記(a)～(k)から選択される1個以上の基で置換されているか、もしくは無置換のフェニル基：

(a) ハロゲン原子、(b) トリフルオロメチル、(c) 水酸基、(d) ニトロ、(e) カルボキシル基、(f) C1～4アルキルで置換されていてもよいアミノ、(g) C1～4アルキル、C1～4アルコキシ、もしくはC1～4アルキルチオ、(h) フェニル、(j) 窒素、酸素および硫黄原子の少なくとも1個を含む複素環：(該複素環は、(aa) ハロゲン原子、(bb) トリフルオロメチル、(cc) フェニル、(dd) ニトロ、(ee) 水酸基、(ff) カルボキシル基、(gg) C1～4アルキルで置換されていてもよいアミノ、(hh) C1～4アル

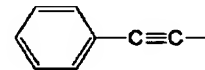
キル、(ij) C1～4アルコキシ、および(kk) C1～4アルキルチオから選択される1個以上の基で置換されていてもよい。)、および(k) 水酸基、フェニルおよび前記の(j)に記載の複素環から選択される1個以上の基で置換されたC1～4アルキル、(iv) 下記(a)～(k)から選択される1個以上の基で置換されているか、もしくは無置換の窒素、酸素および硫黄原子の少なくとも1個を含む複素環：(a) ハロゲン原子、(b) トリフルオロメチル、(c) フェニル、(d) ニトロ、(e) 水酸基、(f) カルボキシル基、(g) C1～4アルキルで置換されていてもよいアミノ、(h) C1～4アルキル、C1～4アルコキシ、もしくはC1～4アルキルチオ、(j) オキソ、および(k) 水酸基、フェニルおよび前記(iii)中の(j)に記載の複素環から選択される1個以上の基で置換されているC1～4アルキル、(v) 式

【化2】



(式中、R⁴ は水素原子またはC1～4アルキルを表わす。)で示される基、または(vi) 式

【化3】



で示される基；を表わすか、または、(3) R¹ と R² が一緒になって、テトラメチレンまたはペンタメチレンを表わし、R³ は、(1) 水素原子、(2) C1～12のアルキル、(3) C7～13のアラルキル、または(4) 1個以上のC1～4アルキルで置換されているか、もしくは無置換のC4～7のシクロアルキル、もしくはC4～7シクロアルケニル、または(3) 下記

(i)～(x)から選択される1個以上の基で置換されているか、もしくは無置換のフェニル：(i) ハロゲン原子、(ii) トリフルオロメチル、(iii) 水酸基、(iv) ニトロ、(v) カルボキシル基、(vi) C1～4アルキルで置換されていてもよいアミノ、(vii) C1～4アルキル、C1～4アルコキシ、もしくはC1～4アルキルチオ、(viii) フェニル、(ix) 窒素、酸素および硫黄原子の少なくとも1個を含む複素環：(該複素環は、(a) ハロゲン原子、(b) トリフルオロメチル、(c) フェニル、(d) ニトロ、(e) 水酸基、(f) カルボキシル基、(g) C1～4アルキルで置換されていてもよいアミノ、(h) C1～4アルキル、(j) C1～4アルコキシ、および(k) C1～4アルキルチオから選択される1個以上の基で置換されていてもよい。)、および(x) 水酸基、フェニルおよび前記の(i)～(x)に記載の複素環から選択される1個以上の基で置換されているC1～4アルキル；を表わす。)で示される

ロダニン誘導体、またはその非毒性塩である請求項1に記載の治療および/または予防剤。

【請求項3】 アルドース還元酵素阻害剤が、(E, E)-5-(2-メチル-3-フェニル-2-プロペニリデン)-4-オキソ-2-チオキソ-3-チアゾリジン酢酸である請求項2に記載の治療および/または予防剤。

【請求項4】 アポトーシス関連疾患が、アルツハイマー型老年痴呆症等の痴呆症、脳血管障害、神経変性疾患、AIDS、AIDS関連疾患、成人T細胞白血病、毛様細胞白血病、脊髄症、呼吸器障害、関節症、ブドウ膜炎等のHIV、HTLV関連疾患や全身性エリテマトーデス、慢性関節リウマチ等の膠原病、潰瘍性大腸炎、シェーグレン症候群、原発性胆汁性肝硬変、突発性血小板減少性紫斑病、自己免疫性溶血性貧血、重症筋無力症、インスリン依存型(I型)糖尿病等の自己免疫疾患、骨髓異形成症候群、周期性血小板減少症、再生不良性貧血、突発性血小板減少症、汎発性血管内凝固症等の血小板減少を伴う各種疾患、C型、A型、B型またはF型等のウィルス性や薬剤性の肝炎及び肝硬変等の肝疾患、成人呼吸急迫症候群、前立腺肥大症、子宮筋腫、気管支喘息、各種先天性奇形症、腎炎、老人性白内障、慢性疲労症候群、筋ジストロフィーである請求項1に記載の治療および/または予防剤。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明が属する技術分野】本発明は、アルドース還元酵素阻害剤を有効成分として含有する、アポトーシス関連疾患の治療および/または予防剤に関する。

【0002】

【発明の背景および従来技術】アポトーシスは、核内構造の変化を伴う急速な細胞縮小が特徴であり、クロマチンが正常の網状構造を失い、核膜辺縁に凝集し、核を含め細胞質全体が縮小する細胞死である。アポトーシスは発生過程での組織形成、生体の恒常性維持、老化などの生理的機能のみならず、ウィルス感染、発癌など病態にも深く関わっていると考えられる。例えば、AIDSの病態では、HIVの感染により、CD4陽性T細胞のアポトーシスが誘発されたり、悪性腫瘍患者癌細胞においては、癌細胞周囲の細胞からのサイトカインの作用によりアポトーシスが促進されているなどの報告がある。従って、アポトーシス抑制作用を有することは、アポトーシス関連疾患において疾患の治療および予防に有効であると考えられる。

【0003】アポトーシスに関連する疾患としては、例えば、アルツハイマー型老年痴呆症等の痴呆症、脳血管障害、神経変性疾患、AIDS、AIDS関連疾患(ARC)、成人T細胞白血病、毛様細胞白血病、脊髄症、呼吸器障害、関節症、ブドウ膜炎等のHIV、HTLV関連疾患や全身性エリテマトーデス、慢性関節リウマチ

等の膠原病、潰瘍性大腸炎、シェーグレン症候群、原発性胆汁性肝硬変、突発性血小板減少性紫斑病、自己免疫性溶血性貧血、重症筋無力症、インスリン依存型(I型)糖尿病等の自己免疫疾患、骨髓異形成症候群、周期性血小板減少症、再生不良性貧血、突発性血小板減少症、汎発性血管内凝固症等の血小板減少を伴う各種疾患、C型、A型、B型またはF型等のウィルス性や薬剤性の肝炎及び肝硬変等の肝疾患、成人呼吸急迫症候群、前立腺肥大症、子宮筋腫、気管支喘息、各種先天性奇形症、腎炎、老人性白内障、慢性疲労症候群、筋ジストロフィー等が挙げられる。

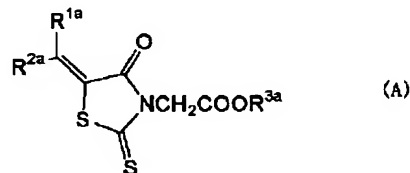
【0004】一方、アルドース還元酵素は、体内のアルドース、例えばグルコース、ガラクトースを対応するポリオール、例えばソルビトール、ガラクトitolを還元する酵素である。糖尿病患者等の糖過剰な状態において、この酵素の過剰な働きによって生じたソルビトールやガラクトitolが水晶体、末梢神経、腎臓等に蓄積され、その結果、網膜症、糖尿病性白内障、末梢神経障害、腎障害等の合併症が起こる。アルドース還元酵素阻害剤は、アルドース還元酵素を阻害することにより、慢性糖尿病の合併症の治療および予防に有効であることが知られている。

【0005】アルドース還元酵素阻害剤としては、例えば、以下のものが知られている。

【0006】特開昭57-40478号明細書には、一般式(A)

【0007】

【化4】



【0008】で示される化合物がアルドース還元酵素阻害作用を有し、慢性糖尿病の合併症、例えば循環器障害、腎障害、網膜症、糖尿病性白内障、神経障害、感染症等でアルドース還元酵素に起因する合併症として知られている神経痛の如き神経障害、網膜症、糖尿病性白内障、尿細管性腎臓病の如き腎障害の予防や治療に有用であることが記載されている。

【0009】また、糖尿病性網膜症において周皮細胞が損失する事実より、高糖濃度条件下で培養したウシ網膜微小血管周皮細胞を用いて、アルドース還元酵素阻害作用を有するSNK-860[(2S, 4S)-6-フルオロ-2', 5'-ジオキソスピロ[3, 4-ジヒドロ-2H-1-ベンゾピラン-4, 4'-イミダゾリジン]-2-カルボキサミド]の効果が研究され、その結果、該化合物が上記細胞における高糖誘発アポトーシスに対して、抑制効果を示すことが報告されている。[Ex

p. Eye. Res., 71, 309-315 (2000)」。しかし、これは高糖濃度条件下で行われており、高糖濃度とは異なる刺激下での実験は知られていない。もちろん、高糖濃度とは異なる刺激条件下で、かつ上記の細胞以外の細胞において、アルドース還元酵素阻害剤がアポトーシスを抑制する旨の報告は全くない。

【本発明が解決しようとする課題】アルドース還元酵素阻害剤がアポトーシスを抑制することで、アポトーシスに関連する疾患を治療する医薬品は未だ実現されてない。

【0010】

【課題を解決するための手段】本発明者らは、アポトーシス抑制剤について種々検討を行った結果、アルドース還元酵素阻害剤が本目的を達することを見出し、本発明を完成した。

【0011】すなわち、本発明はアルドース還元酵素阻害剤を有効成分として含有するアポトーシス関連疾患の治療および／または予防剤に関する。

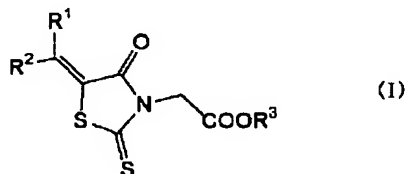
【0012】本発明におけるアポトーシス関連疾患としては、具体的には、アルツハイマー型老年痴呆症等の痴呆症、脳血管障害、神経変性疾患、AIDS、AIDS関連疾患(ARC)、成人T細胞白血病、毛様細胞白血病、脊髄症、呼吸器障害、関節症、ブドウ膜炎等のHIV、HTLV関連疾患や全身性エリテマトーデス、慢性関節リウマチ等の膠原病、潰瘍性大腸炎、シェーグレン症候群、原発性胆汁性肝硬変、突発性血小板減少性紫斑病、自己免疫性溶血性貧血、重症筋無力症、インスリン依存型(Ⅰ型)糖尿病等の自己免疫疾患、骨髄異形成症候群、周期性血小板減少症、再生不良性貧血、突発性血小板減少症、汎発性血管内凝固症等の血小板減少を伴う各種疾患、C型、A型、B型またはF型等のウィルス性や薬剤性の肝炎及び肝硬変等の肝疾患、成人呼吸急迫症候群、前立腺肥大症、子宮筋腫、気管支喘息、各種先天性奇形症、腎炎、老人性白内障、慢性疲労症候群、筋ジストロフィーが挙げられる。

【0013】本発明におけるアポトーシス関連疾患には、糖尿病合併症、具体的には糖尿病性網膜症、糖尿病性白内障、糖尿病性末梢神経障害、糖尿病性の腎障害は含まれない。

【0014】本発明で使用されるアルドース還元酵素阻害剤としては、一般式(Ⅰ)

【0015】

【化5】



【0016】(式中、R¹ および R² は、(Ⅰ) R² お

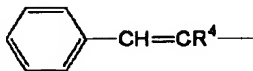
よび R² はそれぞれ独立して、それぞれ下記(i)～(x)から選択される1個以上の基で置換されているか、もしくは無置換のフェニル基：

(i) ハロゲン原子、(ii) トリフルオロメチル、(iii) 水酸基、(iv) ニトロ、(v) カルボキシル基、(vi) C1～4アルキルで置換されていてもよいアミノ、(vii) C1～4アルキル、C1～4アルコキシ、もしくはC1～4アルキルチオ、(viii) フェニル、(ix) 窒素、酸素および硫黄原子の少なくとも1個を含む複素環：(該複素環は、(a) ハロゲン原子、(b) トリフルオロメチル、(c) フェニル、(d) ニトロ、(e) 水酸基、(f) カルボキシル基、(g) C1～4アルキルで置換されていてもよいアミノ、(h) C1～4アルキル、(j) C1～4アルコキシ、および(k) C1～4アルキルチオから選択される1個以上の基で置換されていてもよい。)、(x) 水酸基、フェニルおよび前記の(ix)に記載の複素環から選択される1個以上の基で置換されたC1～4アルキル；を表わすか、(2) R¹ が水素原子を表わし、かつR² が下記(i)～(vi)で示される基：

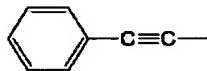
(i) 1個以上のC1～4アルキルで置換されているか、もしくは無置換のC4～7のシクロアルキル、もしくはC4～7シクロアルケニル、(ii) アントリルまたはナフチル、(iii) 下記(a)～(k)から選択される1個以上の基で置換されているか、もしくは無置換のフェニル基：(a) ハロゲン原子、(b) トリフルオロメチル、(c) 水酸基、(d) ニトロ、(e) カルボキシル基、(f) C1～4アルキルで置換されていてもよいアミノ、(g) C1～4アルキル、C1～4アルコキシ、もしくはC1～4アルキルチオ、(h) フェニル、(j) 窒素、酸素および硫黄原子の少なくとも1個を含む複素環：(該複素環は、(aa) ハロゲン原子、(bb) トリフルオロメチル、(cc) フェニル、(dd) ニトロ、(ee) 水酸基、(ff) カルボキシル基、(gg) C1～4アルキルで置換されていてもよいアミノ、(hh) C1～4アルキル、(jj) C1～4アルコキシ、および(kk) C1～4アルキルチオから選択される1個以上の基で置換されていてもよい。)、および(k) 水酸基、フェニルおよび前記の(j)に記載の複素環から選択される1個以上の基で置換されたC1～4アルキル、(iv) 下記(a)～(k)から選択される1個以上の基で置換されているか、もしくは無置換の窒素、酸素および硫黄原子の少なくとも1個を含む複素環：

(a) ハロゲン原子、(b) トリフルオロメチル、(c) フェニル、(d) ニトロ、(e) 水酸基、(f) カルボキシル基、(g) C1～4アルキルで置換されていてもよいアミノ、(h) C1～4アルキル、C1～4アルコキシ、もしくはC1～4アルキルチオ、(j) オキソ、および(k) 水酸基、フェニルおよび前記(ii)中の(j)に記載の複素環から選択される1個以上

の基で置換されているC1～4アルキル、(v)式
【0017】
【化6】



【0018】(式中、R⁴は水素原子またはC1～4アルキルを表わす。)で示される基、または(vi)式
【0019】
【化7】



【0020】で示される基;を表わすか、または、
(3) R¹とR²が一緒になって、テトラメチレンまたはペンタメチレンを表わし、R³は、(1)水素原子、
(2)C1～12のアルキル、(3)C7～13のアラルキル、または(4)1個以上のC1～4アルキルで置換されているか、もしくは無置換のC4～7のシクロアルキル、もしくはC4～7シクロアルケニル、または
(3)下記(i)～(x)から選択される1個以上の基で置換されているか、もしくは無置換のフェニル:

(i)ハロゲン原子、(ii)トリフルオロメチル、(iii)水酸基、(iv)ニトロ、(v)カルボキシル基、(vi)C1～4アルキルで置換されていてもよいアミノ、
(vii)C1～4アルキル、C1～4アルコキシ、もしくはC1～4アルキルチオ、(viii)フェニル、(ix)窒素、酸素および硫黄原子の少なくとも1個を含む複素環:(該複素環は、(a)ハロゲン原子、(b)トリフルオロメチル、(c)フェニル、(d)ニトロ、(e)水酸基、(f)カルボキシル基、(g)C1～4アルキルで置換されていてもよいアミノ、(h)C1～4アルキル、(j)C1～4アルコキシ、および(k)C1～4アルキルチオから選択される1個以上の基で置換されていてもよい。)、および(x)水酸基、フェニルおよび前記の(ix)に記載の複素環から選択される1個以上の基で置換されているC1～4アルキル;を表わす。)で示されるロダニン誘導体、またはその非毒性塩が好ましい。

【0021】一般式(1)で示される化合物は、公知の方法で非毒性塩に変換される。

【0022】本明細書中、非毒性塩とは、アルカリ金属塩、アルカリ土類金属塩、アンモニウム塩、アミン塩、酸付加塩等が挙げられる。

【0023】塩は、毒性のない、水溶性のものが好ましい。適当な塩としては、アルカリ金属(カリウム、ナトリウム等)の塩、アルカリ土類金属(カルシウム、マグネシウム等)の塩、アンモニウム塩、薬学的に許容される有機アミン(テトラメチルアンモニウム、トリエチルアミン、メチルアミン、ジメチルアミン、シクロペンチ

ルアミン、ベンジルアミン、フェネチルアミン、ヒペリジン、モノエタノールアミン、ジエタノールアミン、トリス(ヒドロキシメチル)アミノメタン、リジン、アルギニン、N-メチル-D-グルカミン等)の塩が挙げられる。

【0024】酸付加塩は非毒性かつ水溶性であることが好ましい。適当な酸付加塩としては、例えば塩酸塩、臭化水素酸塩、ヨウ化水素酸塩、硫酸塩、リン酸塩、硝酸塩のような無機酸塩、または酢酸塩、乳酸塩、酒石酸塩、安息香酸塩、クエン酸塩、メタンスルホン酸塩、エタンスルホン酸塩、ベンゼンスルホン酸塩、トルエンスルホン酸塩、イセチオン酸塩、グルクロン酸塩、グルコン酸塩のような有機酸塩が挙げられる。

【0025】また、一般式(1)で示される本発明化合物またはその非毒性塩は、公知の方法により溶媒和物に変換することもできる。

【0026】溶媒和物は非毒性かつ水溶性であることが好ましい。適当な溶媒和物としては、例えば水、アルコール系の溶媒(例えば、エタノール等)のような溶媒和物が挙げられる。

【0027】本発明においては、特に指示しない限り異性体はこれをすべて包含する。例えば、アルキル、アルコキシおよびアルキルチオには直鎖のものおよび分枝鎖のものが含まれる。さらに、二重結合、環、縮合環における異性体(E、Z、シス、トランス体)、不斉炭素の存在等による異性体(R、S体、α体、β体、エナンチオマー、ジアステレオマー)、旋光性を有する光学活性体(D、L、d、l体)、クロマトグラフ分離による極性体(高極性体、低極性体)、平衡化合物、これらの任意の割合の混合物、ラセミ混合物は、すべて本発明に含まれる。

【0028】本発明において、より好ましい化合物は、(E、E)-5-(2-メチル-3-フェニル-2-プロペニリデン)-4-オキソ-2-チオキソ-3-チアゾリジン酢酸(化合物(1);一般名:エバルレスタット)である。

【0029】また、一般式(1)で示される化合物は、特開昭57-40478号に記載されている方法により製造することができる。

【0030】

【本化合物の薬理活性】一般式(1)で示される本化合物は、後述するようにアポトーシス抑制作用を有しており、そのため上記したアポトーシス関連疾患の治療および/または予防に有用である。

【0031】

【毒性】本化合物の毒性は十分に低いものであり、医薬品として使用するために十分安全であることが確認された。例えば、ラットを用いた経口投与では、化合物

(1)のLD₅₀値は、5600mg/kgであった。

【0032】

【医薬品への適用】本発明に用いられるアルドース還元酵素阻害剤は、アポトーシス抑制作用を有するため、例えば、アポトーシスが関与する免疫機能及び脳機能の低下または亢進、動脈硬化や心筋梗塞等の循環機能障害、肝機能障害、悪性腫瘍、血液細胞機能障害等々の治療および／または予防のために用いられる。具体的には、アルツハイマー型老年痴呆症等の痴呆症、脳血管障害、神経変性疾患、AIDS、AIDS関連疾患、成人T細胞白血病、毛様細胞白血病、脊髄症、呼吸器障害、関節症、ブドウ膜炎等のHIV、HTLV関連疾患や全身性エリテマトーデス、慢性関節リウマチ等の膠原病、潰瘍性大腸炎、シェーグレン症候群、原発性胆汁性肝硬変、突発性血小板減少性紫斑病、自己免疫性溶血性貧血、重症筋無力症、インスリン依存型（I型）糖尿病等の自己免疫疾患、骨髓異形成症候群、周期性血小板減少症、再生不良性貧血、突発性血小板減少症、汎発性血管内凝固症等の血小板減少を伴う各種疾患、C型、A型、B型またはF型等のウィルス性や薬剤性の肝炎及び肝硬変等の肝疾患、成人呼吸急迫症候群、前立腺肥大症、子宮筋腫、気管支喘息、各種先天性奇形症、腎炎、老人性白内障、慢性疲労症候群、筋ジストロフィー等の治療および／または予防のために用いられる。

【0033】本発明で用いるアルドース還元酵素阻害剤は、

- 1) 該阻害剤のアポトーシス関連疾患の予防および／または治療効果の補完および／または増強、
- 2) 該阻害剤の動態・吸収改善、投与量の低減、および／または
- 3) 該阻害剤の副作用の軽減のために他の薬剤と組み合わせ、併用剤として投与してもよい。

【0034】アルドース還元酵素阻害剤と他の薬剤の併用剤は、1つの製剤中に両成分を配合した配合剤の形態で投与してもよく、また別々の製剤にして投与する形態をとってもよい。この別々の製剤にして投与する場合には、同時投与および時間差による投与が含まれる。また、時間差による投与は、アルドース還元酵素阻害剤を先に投与し、他の薬剤を後に投与してもよいし、他の薬剤を先に投与し、アルドース還元酵素阻害剤を後に投与してもかまわず、それぞれの投与方法は同じでも異なっているともよい。

【0035】上記併用剤により、予防および／または治療効果を奏する疾患は特に限定されず、アルドース還元酵素阻害剤のアポトーシス関連疾患の予防および／または治療効果を補完および／または増強する疾患であればよい。

【0036】例えば、アルドース還元酵素阻害剤のアルツハイマー型老年痴呆症等の痴呆症に対する予防および／または治療効果の補完および／または増強のための他の薬剤としては、例えば、アセチルコリンエステラーゼ阻害剤、ニコチン受容体調節剤、脳循環代謝改善薬、モ

ノアミノキシダーゼ阻害剤、ビタミンE等が挙げられる。

【0037】例えば、アルドース還元酵素阻害剤の脳血管障害に対する予防および／または治療効果の補完および／または増強のための他の薬剤としては、例えば、β遮断薬、抗血栓薬、脳循環代謝改善薬等が挙げられる。

【0038】例えば、アルドース還元酵素阻害剤の神経変性疾患に対する予防および／または治療効果の補完および／または増強のための他の薬剤としては、例えば、抗てんかん薬、アセチルコリンエステラーゼ阻害剤、アストロサイト機能改善剤、神経栄養因子等が挙げられる。

【0039】アセチルコリンエステラーゼ阻害剤としては、例えば、塩酸ドネベジル、TAK-147等が挙げられる。

【0040】脳循環代謝改善薬としては、例えば、脳血管拡張剤、脳代謝賦活剤、血液性状改善剤等が挙げられ、具体的には、イデベノン、ホバンテン酸カルシウム、塩酸アマンタジン、塩酸メクロフェノキサート、メシル酸ジヒドロエルゴトキシン、塩酸ビリチオキシン、γ-アミノ酪酸、塩酸ビフェメラン、マレイン酸リスリド、塩酸インデロキサジン、ニセルゴリン、プロベントフィリン等が挙げられる。

【0041】モノアミノキシダーゼ阻害剤としては、塩酸サフラジンが挙げられる。

【0042】β遮断薬としては、例えば、アテノロール、ナドロール、ニブラジロール、ビンドロロール、フマル酸ピソプロロール、マレイン酸チモロール、マロン酸ボビンドロロール、塩酸アセプトロール、塩酸アルブレノロール、塩酸インデノロール、塩酸オクスブレノロール、塩酸カルテオロール、塩酸セリプロロール、塩酸チリソロール、塩酸ブクモロール、塩酸プフェトロール、塩酸ブプラノロール、塩酸プロプラノロール、塩酸ベタキソロール、酒石酸メトプロロール、硫酸ペンブトロール等が挙げられる。

【0043】抗血栓薬としては、例えば、ヘパリン、経口抗凝固薬（ワーファリン）、合成抗トロンピン薬（メシル酸ガベキサート、メシル酸ナファモスタット、アルガトロバン等）、抗血小板薬（アスピリン、ジビリダモール、塩酸チクロピン、ベラプロストナトリウム、シロスタゾール、オザグレルナトリウム等）、血栓溶解剤（ウロキナーゼ、チソキナーゼ、アルテプラゼ等）、ファクターXa阻害剤、ファクターVIIa阻害剤が挙げられる。

【0044】抗てんかん薬としては、フェノバルビタール、メホバルビタール、メタルビタール、ブリミドン、フェニトイン、エトトイン、トリメタジオン、エトスクシミド、アセチルフェネトライド、カルバマゼピン、アセタゾラミド、ジアゼパム、バルプロ酸ナトリウム等が挙げられる。

【0045】アストロサイト機能改善剤としては、ON O-2506が挙げられる。

【0046】神経栄養因子としては、ABS-205が挙げられる。

【0047】一般式(1)で示される化合物と他の薬剤の重量比は特に限定されない。

【0048】他の薬剤は、任意の2種以上を組み合わせ投与してもよい。

【0049】また、アルドース還元酵素阻害剤によるアポトーシス関連疾患の予防および／または治療効果を補完および／または増強する他の薬剤には、上記したメカニズムに基づいて、現在までに見出されているものだけでなく今後見出されるものも含まれる。

【0050】本発明で用いるアルドース還元酵素阻害剤と他の薬剤の併用剤を上記の目的で用いるには、通常、全身的または局所的に、経口または非経口の形で投与される。

【0051】投与量は、年齢、体重、症状、治療効果、投与方法、処理時間等により異なるが、通常、成人一人あたり、1回につき、1mgから1000mgの範囲で、1日1回から数回経口投与されるか、または成人一人あたり、1回につき、1mgから100mgの範囲で、1日1回から数回非経口投与（好ましくは、静脈内投与）されるか、または1日1時間から24時間の範囲で静脈内に持続投与される。

【0052】もちろん前記したように、投与量は、種々の条件によって変動するので、上記投与量より少ない量で十分な場合もあるし、また範囲を越えて必要な場合もある。

【0053】アルドース還元酵素阻害剤と他の薬剤の併用剤を投与する際には、経口投与のための固体組成物、液体組成物およびその他の組成物および非経口投与のための注射剤、外用剤、坐剤、点眼剤、吸入剤等として用いられる。

【0054】経口投与のための固体組成物には、錠剤、丸剤、カプセル剤、散剤、顆粒剤等が含まれる。

【0055】カプセル剤には、ハードカプセルおよびソフトカプセルが含まれる。

【0056】このような固体組成物においては、ひとつまたはそれ以上の活性物質が、少なくともひとつの不活性な希釈剤、例えばラクトース、マンニトール、グルコース、ヒドロキシプロピルセルロース、微結晶セルロース、デンプン、ポリビニルピロリドン、メタケイ酸アルミン酸マグネシウムと混合される。組成物は、常法に従って、不活性な希釈剤以外の添加剤、例えばステアリン酸マグネシウムのような潤滑剤、繊維素グリコール酸カルシウムのような崩壊剤、ラクトースのような安定化剤、グルタミン酸またはアスパラギン酸のような溶解補助剤を含有していてもよい。錠剤または丸剤は必要により白糖、ゼラチン、ヒドロキシプロピルセルロース、ヒ

ドロキシプロピルメチルセルロースフタレートなどの胃溶性あるいは腸溶性物質のフィルムで被覆していてもよいし、また2以上の層で被覆していてもよい。さらにゼラチンのような吸収される物質のカプセルも包含される。

【0057】経口投与のための液体組成物は、薬剤的に許容される乳濁剤、溶液剤、シロップ剤、エリキシル剤等を含む。このような液体組成物においては、ひとつまたはそれ以上の活性物質が、一般的に用いられる不活性な希釈剤（例えば、精製水、エタノール）に含有される。この組成物は、不活性な希釈剤以外に湿潤剤、懸濁剤のような補助剤、甘味剤、風味剤、芳香剤、防腐剤を含有していてもよい。

【0058】経口投与のためのその他の組成物としては、ひとつまたはそれ以上の活性物質を含み、それ自体公知の方法により処方されるスプレー剤が含まれる。この組成物は不活性な希釈剤以外に亜硫酸水素ナトリウムのような安定剤と等張性を与えるような緩衝剤、例えば塩化ナトリウム、クエン酸ナトリウムあるいはクエン酸のような等張剤を含有していてもよい。スプレー剤の製造方法は、例えば米国特許第2,868,691号および同第3,095,355号に詳しく記載されている。

【0059】本発明による非経口投与のための注射剤としては、無菌の水溶性および／または非水溶性の溶液剤、懸濁剤、乳濁剤を包含する。水性の溶液剤、懸濁剤としては、例えば注射用蒸留水および生理食塩水が含まれる。非水溶性の溶液剤、懸濁剤としては、例えばプロピレングリコール、ポリエチレングリコール、オリーブ油のような植物油、エタノールのようなアルコール類、ポリソルベート80（登録商標）等がある。また、無菌の水溶性と非水溶性の溶液剤、懸濁剤および乳濁剤を混合して使用してもよい。このような組成物は、さらに防腐剤、湿潤剤、乳化剤、分散剤、安定化剤（例えば、ラクトース）、溶解補助剤（例えば、グルタミン酸、アスパラギン酸）のような補助剤を含んでいてもよい。これらはバクテリア保留フィルターを通す過、殺菌剤の配合または照射によって無菌化される。これらはまた無菌の固体組成物を製造し、例えば凍結乾燥品の使用前に、無菌化または無菌の注射用蒸留水または他の溶媒に溶解して使用することもできる。

【0060】非経口投与のための点眼剤の剤形としては、点眼液、懸濁型点眼液、乳濁型点眼液、用時溶解型点眼液および眼軟膏が含まれる。

【0061】これらの点眼剤は公知の方法に準じて製造される。例えば、点眼液の場合には、等張化剤（塩化ナトリウム、濃グリセリン等）、緩衝化剤（リン酸ナトリウム、酢酸ナトリウム等）、界面活性剤（ポリソルベート80（商品名）、ステアリン酸ポリオキシシル40、ポリオキシエチレン硬化ヒマシ油等）、安定化剤（クエン酸ナトリウム、エドト酸ナトリウム等）、防腐剤（塩化

ベンザルコニウム、パラベン等)などを必要に応じて適宜選択して調製される。これらは最終工程において滅菌するか無菌操作法によって調製される。

【0062】非経口投与のための吸入剤としては、エアロゾル剤、吸入用粉末剤又は吸入用液剤が含まれ、当該吸入用液剤は用時に水又は他の適当な媒体に溶解又は懸濁させて使用する形態であってもよい。

【0063】これらの吸入剤は公知の方法に準じて製造される。

【0064】例えば、吸入用液剤の場合には、防腐剤(塩化ベンザルコニウム、パラベン等)、着色剤、緩衝化剤(リン酸ナトリウム、酢酸ナトリウム等)、等張化剤(塩化ナトリウム、濃グリセリン等)、増粘剤(カリボキシビニルポリマー等)、吸収促進剤などを必要に応じて適宜選択して調製される。

【0065】吸入用粉末剤の場合には、滑沢剤(ステアリン酸およびその塩等)、結合剤(デンプン、デキストリン等)、賦形剤(乳糖、セルロース等)、着色剤、防腐剤(塩化ベンザルコニウム、パラベン等)、吸収促進剤などを必要に応じて適宜選択して調製される。

【0066】吸入用液剤を投与する際には通常噴霧器(アトマイザー、ネブライザー)が使用され、吸入用粉末剤を投与する際には通常粉末薬剤用吸入投与器が使用される。

【0067】非経口投与のためのその他の組成物としては、ひとつまたはそれ以上の活性物質を含み、常法により処方される外溶液剤、軟膏、塗布剤、直腸内投与のための坐剤および腔内投与のためのベッサリー等が含まれる。

【0068】

【実施例】アルドース還元酵素阻害化合物が、アポトーシス抑制作用を有することは、以下の実験によって確認された。

【0069】なお、被験薬として用いる化合物(1)は、(E, E)-5-(2-メチル-3-フェニル-2-プロペニリデン)-4-オキソ-2-チオキソ-3-チアゾリジン酢酸である。

実施例1: IMR-32細胞の無血清培養時のアポトーシス

(1) IMR-32細胞の調製及び薬物処理
IMR-32細胞を、10%ウシ胎児血清(以下、FBSと略す)含有ダルベッコ改変イーグル培地(DMEM)に 3×10^5 cells/mLとなる様に懸濁し、96ウェル平底プレートに 3×10^4 cells/well/100 μ L添加した(vehicle群)。また、これとは別に無血清DMEMに 3×10^5 cells/mLとなる様に細胞を懸濁し、96ウェル平底プレートに 3×10^4 cells/well/100 μ L添加した(無血清群)。さらに、無血清DMEMに、最終濃度30 μ Mとなる様に被験薬化合物(1)を添加し、

細胞を 3×10^5 cells/mLとなる様に懸濁して、96ウェル平底プレートに 3×10^4 cells/well/100 μ L添加した(化合物(1)群)。

【0070】細胞播種後9~96時間培養し、アポトーシス細胞の検出のため、後記の(5) TUNEL染色を行った。

実施例2: ラット脊髄後根神経節細胞の高グルタミン酸刺激時のアポトーシス

(2) ラット脊髄後根神経節を用いたシュワン細胞調製及び薬物処理

新生仔ウイスター系ラットより脊髄後根神経節(以下、DRGと略す。)を摘出し、5匹分あたり、0.25%コラゲナーゼ(3mL)で37℃下、30分間処理し、1 μ L DNase I含有トリプシン/EDTA(3mL)で懸濁し、37℃下、15分間処理することにより細胞を分散させた。次に、等量のDMEM/10%FBS培地でトリプシンを不活化し、細胞を洗浄した。DMEM/10%FBSに懸濁し、 1.5×10^6 cells/mLポリリジンコートされた96ウェル平底プレートに 3×10^4 cells/well/200 μ L播種し、37℃で1日間培養を行った。次に、培養液を吸引除去し、DMEM/10%FBS(vehicle群)、DMEM/10%FBSに最終濃度25mMのグルタミン酸添加培養液(高グルタミン酸群)、これに最終濃度30 μ Mとなる様化合物(1)を添加した培養液(化合物(1)群)にそれぞれ交換した。24時間~72時間培養した後、アポトーシス細胞の検出のため、後記の(5) TUNEL染色を行った。

実施例3: PC-12細胞の高グルタミン酸刺激時のアポトーシス

(3) PC-12細胞の調製及び薬物処理

PC-12細胞細胞を、5%FBS及び10%ウマ血清含有DMEMに 3×10^5 cells/mLとなる様に懸濁し、96ウェル平底プレートに 3×10^4 cells/well/100 μ L添加した(vehicle群)。また、これとは別に5%FBS及び10%ウマ血清含有DMEMに 3×10^5 cells/mLとなる様に細胞を懸濁し、96ウェル平底プレートに 3×10^4 cells/well/100 μ L添加し、最後に最終濃度25mMとなる様に、グルタミン酸を添加した(高グルタミン酸群)。これとは別に、5%FBS及び10%ウマ血清含有DMEMに、最終濃度30 μ Mとなる様に化合物(1)を添加し、細胞を 3×10^5 cells/mLとなる様に懸濁して、96ウェル平底プレートに 3×10^4 cells/well/100 μ L添加し、最後に最終濃度25mMとなる様に、グルタミン酸を添加した(化合物(1)群)。

【0071】細胞播種後9~96時間培養し、アポトーシス細胞の検出のため、後記の(5) TUNEL染色を行った。

実施例4：HL-60細胞のTNF- α 刺激時のアポトーシス

(4) HL-60細胞の調製

HL-60細胞を、10%FBS含有RPMI培地に 3×10^5 cells/mLとなる様に懸濁し、96ウェル平底プレートに 3×10^4 cells/well/100 μ L添加した(vehic le群)。また、同様に10%FBS含有RPMI培地に 3×10^5 cells/mLとなる様に細胞を懸濁し、96ウェル平底プレートに 3×10^4 cells/well/100 μ L添加し、さらに最終濃度1ng/mLとなる様にヒトTNF- α を添加した(TNF- α 群)。これとは別に、10%FBS含有RPMI培地に、最終濃度30 μ Mとなる様化合物(1)を添加し、 3×10^5 cells/mLとなる様に細胞を懸濁し、96ウェル平底プレートに 3×10^4 cells/well/100 μ L添加した。その後さらに、最終濃度1ng/mLとなる様にヒトTNF- α を添加した(化合物(1)群)。

【0072】9時間培養した後、アポトーシス細胞の検出のため、後記の(5)TUNEL染色を行った。

(5) TUNEL染色の方法

アポトーシス細胞の検出及び数値化のため、TUNEL染色を用いた。

【0073】即ち、上記の(1)～(4)の各培養時間後、1500rpmで5分遠心し、細胞を吸引しないように、マイクロピペットにて上清を除去した。次に-80℃15分で細胞を凍結し、融解しないうちに、200 μ Lの細胞固定液にて固定し、1500rpm5分遠心し、上清を除去した。その後、100 μ Lの細胞膜透過液にて処理し、すぐに1500rpm5分遠心後、氷上10分放置し、さらに上清を除去した。次に200 μ LのPBS(-)で2回洗浄し、上清除去後、50 μ LのT*

・(E, E)-5-(2-メチル-3-フェニル-2-プロベニリデン)-4-オキソ-2-チオキソ-3-チアゾリジン酢酸 ……5.0g

g

・カルボキシメチルセルロースカルシウム(崩壊剤) ……0.2g
・ステアリン酸マグネシウム(潤滑剤) ……0.1g
・微結晶セルロース ……4.7g

製剤例2

以下の各成分を常法により混合した後、溶液を常法により滅菌し、5mlずつアンプルに充填し、常法により凍結※

・(E, E)-5-(2-メチル-3-フェニル-2-プロベニリデン)-4-オキソ-2-チオキソ-3-チアゾリジン酢酸 ……2.0g

・マンニトール ……20g

・蒸留水 ……500ml

【図面の簡単な説明】

【図1】 1MR-32細胞を、9時間無血清培養した際に誘発されるアポトーシスと、これに対する化合物(1)の抑制作用を示す。

【図2】 1MR-32細胞を、48時間無血清培養し

*dT溶液を添加し、37℃CO₂インキュベーター中で静置した。200 μ LのPBS(-)で2回洗浄し、100 μ LのH₂O₂を添加して、5分静置。200 μ LのPBS(-)で3回洗浄し、100 μ LのPeroxidase-conjugated-抗TdT抗体を添加して、37℃CO₂インキュベーター中で静置した。次に200 μ LのPBS(-)で5回洗浄し、100 μ LのPeroxidase基質を添加し、適度な発色後100 μ LのHCl溶液で反応停止した。基質発色をイムノプレートリーダーを用いて、490nm～650nmで測定した。得られた結果は、OD値で示す。

(1) 実施例1の結果

無血清培養開始9時間後及び48時間後において、化合物(1)は1MR-32細胞に誘導されたアポトーシスを抑制した。結果を、図1および図2に示す。

(2) 実施例2の結果

高グルタミン酸刺激開始48時間後において、化合物(1)はラットDRG細胞に誘導されたアポトーシスを抑制した。結果を、図3に示す。

(3) 実施例3の結果

高グルタミン酸刺激開始24時間後において、化合物(1)はPC-12細胞に誘導されたアポトーシスを抑制した。結果を、図4に示す。

(4) 実施例4の結果

TNF- α 刺激開始9時間後において、化合物(1)はHL-60細胞に誘導されたアポトーシスを抑制した。結果を、図5に示す。

製剤例

製剤例1

以下の各成分を常法により混合した後打錠して、一錠中に50mgの活性成分を含有する錠剤100錠を得た。

※結乾燥し、1アンプル中20mgの活性成分を含有するアンプル100本を得た。

た際に誘発されるアポトーシスと、これに対する化合物(1)の抑制作用を示す。

【図3】 ラットDRG細胞を、48時間高グルタミン酸刺激した際に誘発されるアポトーシスと、これに対する化合物(1)の抑制作用を示す。

17

【図4】 PC-12細胞を、24時間高グルタミン酸刺激した際に誘発されるアポトーシスと、これに対する化合物(1)の抑制作用を示す。

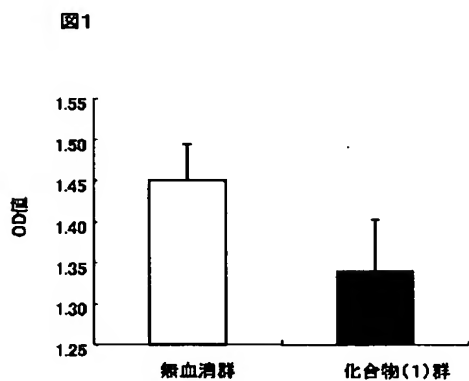
*

18

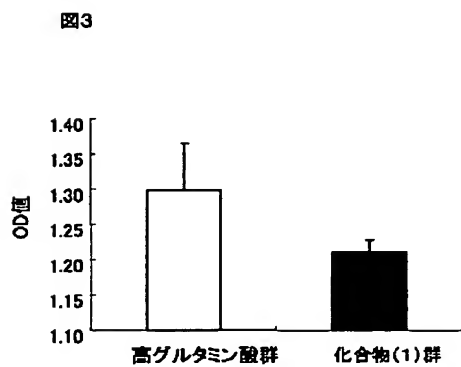
*【図5】 HL-60細胞を、9時間TNF- α 刺激した際に誘発されるアポトーシスと、これに対する化合物(1)の抑制作用を示す。

*

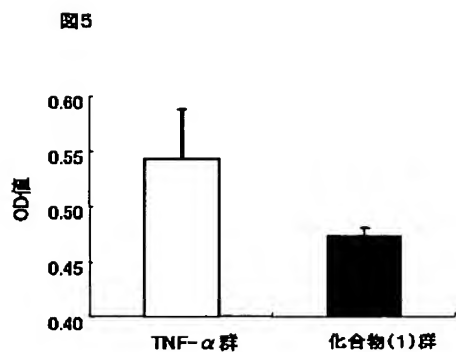
【図1】



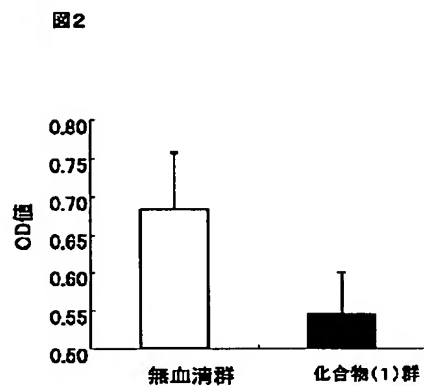
【図3】



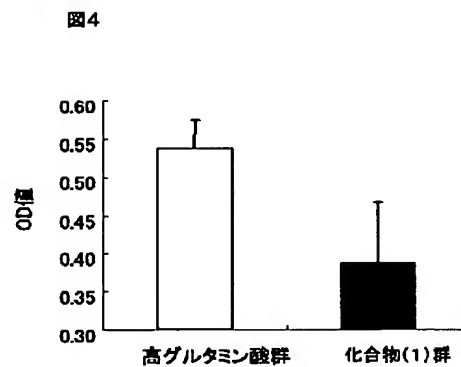
【図5】



【図2】



【図4】



フロントページの続き

(51)Int.Cl.	識別記号	F I	ターマコード (参考)
A 6 1 P 7/00		A 6 1 P 7/00	
7/06		7/06	
11/00		11/00	
11/06		11/06	
13/12		13/12	
15/00		15/00	
19/02		19/02	
21/00		21/00	
25/00		25/00	
25/28		25/28	
27/12		27/12	
29/00	1 0 1	29/00	1 0 1
31/12		31/12	
31/18		31/18	
35/02		35/02	
37/02		37/02	
43/00	1 1 1	43/00	1 1 1
C 0 7 D 277/36		C 0 7 D 277/36	

(72)発明者 井上 敦人
 大阪府三島郡島本町桜井3丁目1番1号
 小野薬品工業株式会社水無瀬総合研究所内

F ターム (参考) 4C033 AD01 AD02 AD16 AD20
 4C084 AA17 ZA012 ZA152 ZA162
 ZA332 ZA512 ZA552 ZA592
 ZA662 ZA752 ZA812 ZA942
 ZA962 ZB072 ZB152 ZB272
 ZB312 ZB332 ZC202 ZC352
 ZC552
 4C086 AA02 BC82 MA01 MA04 ZA01
 ZA15 ZA16 ZA33 ZA51 ZA54
 ZA55 ZA59 ZA66 ZA75 ZA81
 ZA94 ZA96 ZB07 ZB15 ZB27
 ZB33 ZC20 ZC35 ZC55